

鲁山冬凌草素的结构研究

秦崇秋 刘晨江 李继成 安新宗

(河南省医学科学研究所)

孙汉董* 林中文

(中国科学院昆明植物研究所)

冬凌草甲素和乙素 [rubescensin A (=oridonin), B (=ponicidin)] 为冬凌草 [*Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara] 中的两个抗癌有效成份, 对多种动物移植性肿瘤有一定的抗肿瘤作用, 对食管癌、肝癌等有一定疗效^[1, 2]。为了进一步探讨不同产地冬凌草的抗癌活性成份, 我们对河南省鲁山县地区产的冬凌草进行了研究。从叶的乙醚提取物中除分离到 α -amyrin 和 ursolic acid 外, 还分离得到了一个新的二萜苦味成份, 命名为鲁山冬凌草素 (lushanrubescensin) (1), 药理实验 (另报) 表明, (1) 具有一定的抗肿瘤活性, 为冬凌草中的另一抗癌有效成份。文本报其结构研究。

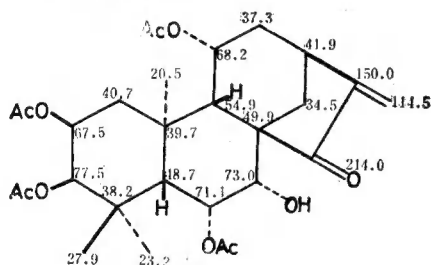
鲁山冬凌草素 (1), 甲醇中得无色棱柱状结晶, mp 188—190°C, $C_{28}H_{38}O_{10}$ (M^{+1} 535), $[\alpha]_D^{25} -62.1^\circ$ ($C=0.99$, C_5H_5N); λ_{max} (EtOH): 239nm ($\epsilon 8206$); ν_{max} (KBr): 1703 和 1645 cm^{-1} ; 1H NMR (C_5D_5N) δ : 6.07 和 5.37 (各 1H, s); ^{13}C NMR (C_5D_5N) (见图 1) δ : 114.5 (t) 和 150.0 (环外亚甲基), 214.0 (s, 酮); 以及 (1) 用 PtO_2 作催化剂催化氢化得到了二氢化物 (3) [mp 218—220°C, $C_{28}H_{40}O_{10}$ (M^{+1} 537)], (3) 的 1H NMR (C_5D_5N) 中, δ 6.07 和 5.37 的环外亚甲基信号消失, 而在 δ 1.25 (3H, d, $J=7$ Hz) 处出现一个仲甲基, 以上光谱数据提示 lushanrubescensin (1) 有着典型的香茶菜属 (*Rabdosia*) 二萜化合物的对映-15-氧-16-贝壳杉烯 (ent-15-oxo-16-kaurene) 的骨架。

鲁山冬凌草素 (1) 具有一个仲羟基和四个乙酰氧基: IR 3440 (OH), 1730, 1248 和 1225 (OAc) cm^{-1} ; 1H NMR δ 5.80—5.37 (3H, m), 5.33 (1H, d, $J=3$ Hz) 和 4.05 (1H, d, $J=4$ Hz); ^{13}C NMR δ 77.5 (d), 73.0 (d), 71.1 (d), 68.2 (d) 和 67.5 (d)。这由 (1) 用醋酐-吡啶乙酰化后生成五乙酰化物 (2) ($C_{30}H_{40}O_{12}$, mp 176—179°C) 而得到证实。

鲁山冬凌草素在 CI-MS 测定中 m/z 295 ($C_{15}H_{18}O_6$) 和 241 ($C_{13}H_{21}O_4$) 的碎片峰是由于 B 环断裂而生成的^[3], 从而表明了二个乙酰氧基位于 A 环上, 另外二个乙酰氧基和一个仲羟基位于 B, C 环上。

(1) 的 ^{13}C NMR数据中于 δ 68.2(d)和67.5(d)的两个次甲基碳的化学位移值说明在 C_2 和 C_{11} 位必然有乙酰氧基存在。因为在对映-贝壳杉烯(ent-kaurene)型化合物中, 由于 r -立体效应所致, C_2 , C_{11} 和 C_6 比其它各个碳有着较高场的化学位移值^[4], 这几个碳被氧化成为次甲基碳后, 其中 C_2 和 C_{11} 的化学位移值均在 δ 60—70ppm以内(当 C_7 没有被氧化时, 包括 C_6 在内), 而其它各个次甲基碳, 其 δ 值均在70ppm以上^[5, 6]。由 C_{18} [δ 27.9(q)]和 C_5 [δ 48.7(d)]的高场化学位移值提示A环的另一个乙酰氧基位于 C_3 的 β 位。这是由于乙酰氧基中羰基对 C_{18} 和 C_5 的屏蔽效应使得这两个碳向高场位移了3—5 ppm。另外, 由 C_3 α -H受到 C_2 乙酰氧基的去屏蔽效应而具有低场的化学位移 δ 5.33(d, $J=3\text{Hz}$)的事实说明A环的另一个乙酰氧基应位于 C_2 - β 位^[7]。

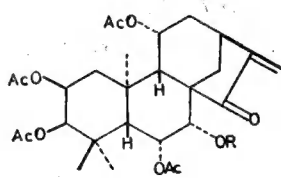
B、C环中的二个乙酰氧基分别位于 C_6 和 C_{11} 的 α 位, 仲羟基位于 C_7 - α 位由下列事实得到支持: 在(1)的 ^{13}C NMR中, C_{10} 由于受到 C_6 α -OAc的去屏蔽作用而有着较低的化学位移值 δ 23.2(q); 另一方面, 由 C_7 β -H(δ 4.05)的偶合情况(d, $J_{\beta\alpha}, \alpha\beta=4\text{Hz}$)也说明 C_6 的-OAc应是 α -取向。根据迄今为止从同属植物所分离鉴定的ent-kaurene型二萜化合物的取代情况及其生源考虑, C_7 -OH只可能是 α -取向。若是 β -取向, 将由于 C_7 -OH r -立体效应的影响, C_5 将位于更高场, 事实上由 C_5 (δ 48.7)的化学位移值说明, C_5 仅受到 C_3 β -OAc的屏蔽效应影响, 而没有受到其它的屏蔽作用, 由此亦说明 C_7 -OH为 α -取向。最后, 关于 C_{11} -OAc的取代, 是由 C_{20} 有着异常低的化学位移值 [δ 20.5(q)] 清楚表明 C_{20} 除了受到 C_6 α -OAc的去屏蔽效应外还受到了来自位于 C_{11} α 位的一OAc的去屏蔽效应; 这还由在 ^1H NMR中 C_{20} - CH_3 具有低场的化学位移 [δ 1.51(s)] 得到进一步支持。根据以上所述, 我们提议鲁山冬凌草素的结构应以(1)式表示。



4 \times OAc: δ 170.4, 170.1, 169.6, 168.9;
21.1, 20.9, 20.5, 20.5

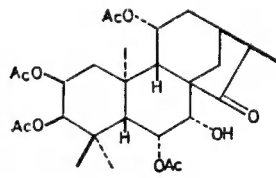
图1 鲁山冬凌草素以 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ 作溶剂的
 ^{13}C NMR数据(δ /ppm)

(各信号的排布是以宽带去偶, 偏共振去偶和类似化合物相比较而指定, 22.63MHz下测定)



(1) $\text{R}=\text{H}$

(2) $\text{R}=\text{Ac}$



(3)

实验部分

熔点用Kofler显微测熔仪测定, 未经校正。红外光谱用岛津IR-450型分光光度计测定; 紫外光谱用UV-210A型仪测定; MS用Finnigan-4510型质谱仪测定; ^1H 和 ^{13}C NMR

用Brucker WH-90型波谱仪测定。

1.5公斤鲁山冬凌草干叶, 乙醚冷浸两次, 每次48小时, 回收乙醚得提取物56克, 甲醇溶解后活性炭脱色, 回收溶剂得粘稠状物20克, 然后进行中性氧化铝柱层分离。苯洗脱部分得白色残留物, 用丙酮处理, 得400毫克白色鲁山冬凌草素结晶(收率0.027%)。从氯仿洗脱部分得 α -amyrin 300毫克, Ursolic acid 410毫克。

1. 鲁山冬凌草素 (1) 无色棱柱状结晶(甲醇中结晶), mp 188—190°C, $[\alpha]_D^{15}$ 62.1° (C=0.99, C₅H₅N), UV λ_{max}^{EtOH} : 239nm (ϵ 8206). IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3440, 1730, 1703, 1645, 1248和1225. ¹H NMR (C₅D₅N) δ : 6.36(1H, s, 7 α -OH, D₂O交换消失), 6.07, 5.37 (各1H, s, 17-H₂), 5.80—5.37(3H, m, 2 α —, 6 β —和11 β —H), 5.33(1H, d, J=3Hz, 3 α —H), 4.05(1H, d, J=4Hz, 7 β —H), 3.00(1H, m, 13 α —H), 2.14, 2.03, 1.98和1.83 (各3H, s, 4 \times OAc), 1.51(3H, s, 20-CH₃), 1.14(3H, s, 18-CH₃), 1.07(3H, s, 19-CH₃); MS (CI 70eV) m/z: 535(M⁺), 517(M⁺-H₂O), 475(M⁺-AcOH), 457 (M⁺-AcOH-H₂O), 433 (M⁺-AcOH-ketene), 415 (M⁺-2 \times AcOH), 397(415-H₂O), 373 (415-ketene), 355(M⁺-3 \times AcOH), 337(355-H₂O), 313(355-ketene), 295(M⁺-4 \times AcOH), 277(M⁺-4 \times AcOH-H₂O), 267(M⁺-4 \times AcOH-CO). ¹³C NMR数据见图1。

2. 乙酰化物 (2) 50毫克(1) 加入2毫升1:1的醋酐-吡啶溶液, 室温搅拌下乙酰化24小时, 常法处理, 得残留物51.8毫克, 制备薄层分离得(2) 45毫克, 甲醇中得细针晶, mp 177—179°C. IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 1755—1728, 1645, 1250—1218. ¹H NMR (C₅D₅N) δ : 5.98和5.26(各1H, br. s, 17-H₂), 5.66(1H, m, 11 β —H), 5.54(1H, d, J=4Hz, 7 β —H), 5.48—5.28(3H, m, 2 α —, 3 α —和6 β —H), 2.96(1H, m, 13 α —H), 2.24, 2.15, 2.12, 1.98和1.77 (各3H, s, 5 \times -OAc), 1.54(3H, s, 20-CH₃), 1.14(3H, s, 18-CH₃), 1.02(3H, s, 19-CH₃); MS (CI 70eV) m/z: 517(M⁺-AcOH), 475(M⁺-AcOH-ketene), 457(M⁺-2 \times AcOH), 415 (M⁺-2 \times AcOH-ketene), 397(M⁺-3 \times AcOH), 355(397-ketene), 337(M⁺-4 \times AcOH), 295(M⁺-4 \times AcOH-ketene), 277(M⁺-5 \times AcOH)。

3. 二氢化物 (3) 取100毫克(1), 溶于6毫升甲醇中, 加入约5毫克5%Pd-C作催化剂, 室温搅拌下氢化2小时, 常法处理得94.3毫克(3), 甲醇中重结晶得无色针晶, mp 189—191°C. IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3430, 1760—1715, 1240—1228. ¹H NMR (C₅D₅N) δ : 6.16(1H, s, 7 α -OH, D₂O交换消失), 5.73—5.42 (3H, m, 2 α —, 6 β —和11 β —H), 5.33 (1H, d, J=3Hz, 3 α —H), 3.98 (1H, d, J=4Hz, 7 β —H), 2.14, 1.98, 1.96和1.88(各3H, s, 4 \times OAc), 1.50(3H, s, 20-CH₃), 1.25(3H, d, J=7Hz, 16 β -CH₃), 1.19(3H, s, 18-CH₃), 1.04(3H, s, 19-CH₃). MS (CI 70eV) m/z: 537(M⁺), 519(M⁺-H₂O), 477(M⁺-AcOH), 459 (M⁺-AcOH-H₂O), 435(M⁺-AcOH-ketene), 417(M⁺-2 \times AcOH), 399(M⁺-2 \times AcOH-H₂O), 375(M⁺-2 \times AcOH-ketene), 357(M⁺-3 \times AcOH), 339 (357-H₂O), 315 (357-ketene), 297(M⁺-4 \times AcOH), 281, 269(297-CO)。

4. α -Amyrin 甲醇中得无色针晶, mp 182—184°C, 对Liebermann-Burchard反应呈

紫红色阳性反应。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (KBr) cm^{-1} : 3270, 1460, 1380, 1360, 1035, 993. ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.79 (1H, br. s, $3\beta\text{-OH}$, D_2O 交换消失), 5.25 (1H, t, $J=4\text{Hz}$, 12-H), 3.50 (1H, m, $3\alpha\text{-H}$), 1.27—0.91 (CH_3). MS (EI 70eV) m/z : 426 (M^+ , $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$), 411 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$), 393 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 218 (基峰), 203, 189, 175, 161. 以上光谱数据与 $\alpha\text{-amyrin}$ 标品一致, 混合熔点亦不下降。

5. ursolic acid 甲醇中得白色粒晶, mp 262—266°C, 对Liebermann-Burchard反应呈紫红色阳性反应。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3430, 1690, 1450, 1380, 1025, 995. ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.50 (1H, t, $J=4\text{Hz}$, 12-H), 3.47 (1H, t, $J=8\text{Hz}$, $3\alpha\text{-H}$), 2.65 (1H, d, $J=12\text{Hz}$, $18\beta\text{-H}$), 1.26 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3$), 1.04 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3$), 1.06, 0.98 和 0.90 (各3H, s, $3 \times \text{CH}_3$). MS (EI 70eV) m/z : 456 (M^{+1} , $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$), 438 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 423 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$), 410 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}$), 395 ($410 - \text{CH}_3$), 312, 300, 287, 273, 248 (基峰), 219, 207, 203, 189, 175. 以上光谱数据与标品 ursolic acid 完全一致。

致谢: 本研究得到周俊副研究员和张覃沐副教授的关怀, 昆明植物研究所李锡文副研究员鉴定植物标本, 物理分析仪器组诸同志进行各项光谱测定, 在此谨表谢意。

参考文献

- [1] 河南省医学科学研究所药理药化组, 河南医学院化学教研组, 云南植物研究所植化室, 郑州化学制药厂制剂室, 1978: 一种新的抗肿瘤物质—冬凌草素, 科学通报, 1, 53—56
- [2] 张覃沐, 陈正玉, 晁金华, 赵清治, 孙汉董, 林中文, 1981: 冬凌草又一抗肿瘤有效成份—冬凌草乙素, 科学通报, 22, 1051—1054
- [3] Kubo, I., T. Kamikawa, T. Isobe and T. Kubota, 1974: Bitter principles of *Isodon umbrosus* Hara. The structures of umbrosin A and B. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 47: 1277—1279.
- [4] Gonzalez, A., B. M. Fraga, M. G. Hernandez and J. R. Hanson, 1981: The ^{13}C NMR spectra of some *ent*-18-hydroxykaur-16-enes. *Phytochemistry*, 20 (4): 846—847.
- [5] Hanson, J. R., M. Sivers, F. Piozzi and G. Savona, 1976: The ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra of kauranoid diterpenes. *J. Chem. Soc. perkin Trans.*, 1: 114—117.
- [6] Yamasaki, K., H. Kohda, T. Kobayashi, R. Kasai and O. Tamaka, 1976: Structures of *stevia* diterpene-glucosides: application of ^{13}C NMR. *Tetrahedron letters*, 13: 1005—1008.
- [7] Takeda, Y., T. Fujita and A. Ueno, 1981: Structures of leukamenins. *Chemistry letters*, 1229—1232.

STUDIES ON THE STRUCTURE OF LUSHANRUBESCENSIN

Qin Chongqiu, Liu Chenjiang, Li Jicheng, An Xinzong

(Henan Medical Institute, Zhengzhou)

Sun Handong*, Lin Zhongwen

(Kunming Institute of Botany, Academia sinica)

Abstract

During the course of our studies on the biologically active constituents of *Rabdosia* plants, we examined the ether extract of the leaves of *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara collected in Lushan, Henan. A new diterpenoid, lushanrubescensin (1) was isolated together with α -amyrin and ursolic acid. On the basis of spectroscopic and chemical evidence, the structure of (1) has been established as ent-7 β -hydroxy-2 α , 3 α , 6 β , 11 β -tetraacetox-16-kauren-15-one.